

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1940

N^o

THÈSE

343

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Henri CHRETIEN

Né le 16 Octobre 1912 à Edimbourg (Grande-Bretagne)

**Contribution à l'étude de la physiologie
du système nerveux végétatif :
LA CHOLINESTERASE**

Président : LAIGNEL-LAVASTINE, Professeur.

IMPRIMERIE GASTON DALEX
171, Rue Saint-Jacques, V.

—
1940

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1940

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Henri CHRETIEN

Né le 16 Octobre 1912 à Edimbourg (Grande-Bretagne)

**Contribution à l'étude de la physiologie
du système nerveux végétatif :
LA CHOLINESTERASE**

Président : LAIGNEL-LAVASTINE, Professeur.

IMPRIMERIE GASTON DALEX
171, Rue Saint-Jacques, V°

1940

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	Robert DEBRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	PASTEUR-VALLERY RADOT.
Pathologie chirurgicale	MONDOR.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LEVY-VALENSI.
Pathologie expérimentale et comparée	Henri BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
	ABRAMI.
Clinique médicale	FIESSINGER.
	LOEPER.
	RATHERY.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	LAIGNEL-LAVASTINE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNEO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GREGOIRE.
Clinique ophtalmologique	LENORMANT.
Clinique urologique	VELTER.
	CHEVASSU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	LEVY-SOLAL.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	MOCQUOT.
Clinique thérapeutique médicale	OMBREDANNE.
Clinique oto-rhino-laryngologique	HARVIER.
Clinique thérapeutique chirurgicale	LEMAITRE.
Clinique propédeutique	Pierre DUVAL.
Clinique de la tuberculose	M. VILLARET.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	TROISIER.
Clinique de cardiologie	MATHIEU.
Clinique de neuro-chirurgie	LAUBRY.
Assistance médico-sociale	Clovis VINCENT.
	N...
Professeurs sans chaire	HAZARD.
	MULON.
	OLIVIER.
	SANNIE.
	VERNE.



II. — AGREGES EN EXERCICE

MM.

AMELINE Pathologie chirurgicale.
 BARIETY Pathologie médicale.
 BERNARD Etienne. Pathologie médicale.
 BESANÇON (Justin). Hydrologie.
 BONNET Bactériologie.
 BOULANGER .. Chimie.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BROUET Pathologie médicale.
 BULLIARD Histologie.
 CACHERA Pathologie médicale.
 CORDIER Anatomie.
 COSTE Pathologie médicale.
 COUVELAIRE (Roger). Urologie.
 DELARUE Anatomie pathologique.
 DELAY Pathologie médicale.
 DEGREG (H.) .. Physique.
 DESOILLE Médecine légale.
 DIGONNET Obstétrique.
 DOGNON Physique.
 FEVRE Pathologie chirurgicale.
 FUNCK-BRENTANO. Pathologie chirurgi-
 cale.
 GALLIARD Parasitologie.
 GARCIN Pathologie médicale.
 M^{me} GAUTHIER-VILLARS. Anatomie pa-
 thologique.
 GAYET Physiologie.
 DE GENNES ... Pathologie médicale.

MM.

GIROUD Histologie.
 HAGUENAU ... Pathologie médicale.
 HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
 JOANNON Hygiène.
 LACOMME Obstétrique.
 LANTUEJOUL.. Obstétrique.
 LAVIER Parasitologie.
 LELONG Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimen-
 tale.
 LENEGRE Pathologie médicale.
 M^{me} J. LEVY... Pharmacologie.
 MARCHAL Pathologie médicale.
 MENEGAUX ... Pathologie chirurgicale.
 MOLLARET Pathologie médicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 PATEL Pathologie chirurgicale.
 PETIT-DUTAILLIS. Pathologie chirur-
 gicale.
 RENARD Ophthalmologie.
 RICHET Physiologie.
 SENEQUE Pathologie chirurgicale.
 SICARD Pathologie chirurgicale.
 SOULIE Pathologie médicale.
 SUREAU Obstétrique.
 TURPIN Pathologie médicale.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.
 GUENIOT Obstétrique.
 HEITZ-BOYER . Pathologie chirurgicale.

MM.

LARDENNOIS .. Pathologie chirurgicale.
 LE LORIER ... Obstétrique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 VAUDESCAL ... Obstétrique.

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALAJOUANINE .	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale
BRULE		BROCQ	
CATHALA		CADENAT	
CHABROL		GATELLIER ...	
CHEVALLIER...		de GAUDART	
DONZELOT		d'ALLAINES..	
DUVOIR		LEVEUF	
GASTINEL		MOULONGUET..	
HUGUENIN		MOURE	
LAROCHE (G.)..		QUENU	
LIAN			
MOREAU			
PIEDELIEVRE..			
SEZARY			

MM.

ECALLE	} Clinique obstétricale
METZGER	
PORTES	
VIGNES	

V. — CHARGES DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
RUPPE	Stomatologie.
WEIL-HALLE	Puériculture.

Par délibération en date du 9embre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MERE

A MON PERE

*Dans l'espoir que ce travail sera
l'humble récompense de leur dévouement
et de leurs sacrifices.*

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur LAIGNEL-LAVASTINE
Professeur de Clinique des maladies mentales
et des maladies de l'encéphale
à la Faculté de Médecine de Paris,
Membre de l'Académie de Médecine,
Officier de la Légion d'honneur.

*Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de notre thèse.*

A MON MAITRE LE DOCTEUR TEULIE

Médecin de l'hôpital psychiatrique de Villejuif

A MES MAITRES DES HOPITAUX
ET DE LA FACULTE

INTRODUCTION

En abordant cette étude de la cholinestérase, nous nous proposons d'en faire le dosage et d'en étudier les variations dans les tissus et humeurs de l'homme à l'état normal et dans divers états pathologiques. Les circonstances ne nous ont pas permis d'entreprendre ces travaux.

Le modeste travail que nous présentons se limite donc à : 1) un rappel historique de la formation de nos idées actuelles sur la physiologie du système nerveux parasympathique; 2) une étude des propriétés de la cholinestérase selon les travaux récents; 3) une vue d'ensemble sur sa répartition dans le règne animal. D'où nous tirons nos conclusions sur le rôle fonctionnel de la cholinestérase.

En somme, plutôt que d'une étude achevée de la cholinestérase, il s'agit d'une introduction à cette étude.

I

HISTORIQUE

Rôle de l'acétylcholine dans la physiologie du système nerveux parasympathique

L'intervention de l'acétylcholine en tant que médiateur chimique dans le fonctionnement du système nerveux parasympathique est un fait établi depuis les expériences de LÆWI (1921) et généralement admis [cf. FRÉDÉRICQ (1927), L. LAPICQUE (1934), T. M. BACQ (1935) GADDUM (1936)]. Ce mécanisme a même été étendu au système nerveux de la vie de relation (DALE et FELDBERG, 1934).

En 1904, T. R. ELLIOTT a envisagé le premier l'intervention des intermédiaires chimiques dans le fonctionnement du système nerveux. Cet auteur fut frappé de deux faits : 1° L'adrénaline reproduit fidèlement les effets de l'excitation sympathique, et 2° la dégénérescence des fibres postganglionnaires sympathiques n'amène pas la suppression de la sensibilité des muscles lisses à l'adrénaline. Il écrivait : « Adrenaline might then be the chemical stimulant liberated on each occasion when the impulse arrives at the periphery. »

Il posait ainsi avec la plus grande justesse le problème

de la libération d'une substance chimique par les fibres post-ganglionnaires.

HOWEL (1906 et 1908) observa certaines analogies entre l'action des ions K et celle de l'excitation vagale; il montra que la teneur du perfusat en ions K influe sur l'excitabilité vagale et émit l'hypothèse que le vague exerce son action inhibitrice par l'intermédiaire des ions K diffusibles, libérés par l'influx nerveux. Nous savons maintenant que HOWEL n'était pas sur la bonne piste. Ses recherches portaient moins sur le médiateur chimique que sur les modifications ioniques que provoque ce médiateur.

DIXON (1907) se rapprocha davantage de la solution du problème. Connaissant la conception d'ELLIOT (1904), il l'appliqua au parasympathique vagal et tenta de démontrer la libération dans le cœur de chien d'une substance à action muscarinique.

J. GAUTRELET, dès 1909, attribua à la choline, dont il montra la présence dans la plupart des organes des animaux pourvus de surrénales ou d'organes chromaffines, les vertébrés avant tout, un rôle antagoniste de l'adrénaline. « LANGLEY et ELLIOT, disait-il, ont remarqué qu'il existait une identité absolue entre l'action de l'adrénaline et l'excitation du sympathique. LÉPINE admit récemment que l'adrénaline sécrétée par les cellules chromaffines contiguës aux fibres sympathiques pourrait diffuser directement jusqu'à ces dernières et pénétrer dans l'organisme par voie nerveuse. Rien n'empêche d'admettre que la choline, sécrétée par le pancréas en particulier, pénètre, elle aussi, directement dans les nerfs. » (J. GAUTRELET, 1909.)

Ainsi se précisait l'idée de l'existence d'un médiateur chimique de l'excitation nerveuse parasympathique.

Vu l'instabilité de l'effet de l'excitation parasympathique, DALE, dès 1914, pensa à un ester de la choline, l'acétylcholine notamment, dont il envisagea même l'hydrolyse fermentaire.

La preuve expérimentale de ces hypothèses n'a été fournie qu'en 1921 par la célèbre expérience de LÆWI sur le cœur de grenouille.

LÆWI irrigue au moyen du liquide de Ringer un cœur de crapaud ou de grenouille fixé à une canule de Straub. On a eu soin de respecter les deux troncs nerveux vagues sympathiques innervant le cœur. On recueille comme témoin le liquide de perfusion qui a baigné le cœur pendant le repos des nerfs et, comme liquide vagal, celui qui l'a alimenté lors de la faradisation des nerfs vago-sympathiques. Sur le même cœur, préalablement lavé au moyen de Ringer frais, ou sur un cœur neuf, on fait agir les deux échantillons ainsi prélevés. Le liquide prélevé pendant l'excitation du vague (liquide vagal) diminue la fréquence et l'énergie des pulsations (action chronotrope et inotrope négatives), c'est-à-dire que ce Ringer vagal agit exactement comme l'excitation vagale elle-même. L'action de ce « Vagustoff » est paralysée par l'atropine, d'où l'on peut déduire que l'action du liquide n'est pas due à une augmentation possible de sa teneur en ions K (hypothèse d'HOWEL, 1908), car l'action des ions K n'est pas modifiée par l'atropine. La teneur du perfusé en choline augmente pendant les périodes d'excitation vagale; cependant cette choline est trop peu active pour être le « Vagustoff ». Dès cette époque (1922), LÆWI pensait à un ester de la choline et comparait l'action de son « vagustoff » à celle de l'acétylcholine. WITANOWSKI (1925) met en évidence certaines propriétés physiochimiques du « vagustoff » :

le « vagustoff » dialyse à travers un sac de collodion; à température de laboratoire il est rapidement détruit à pH alcalin; il se conserve mieux à pH acide ou à la glacière; il est soluble dans l'alcool mais non dans l'éther; il résiste à la dessiccation dans le vide sulfurique.

La transmission humorale de l'inhibition cardiaque obtenue par excitation du vague fut le point de départ de nos connaissances expérimentales en matière de médiateurs chimiques. Cette transmission humorale a été essayée par un grand nombre d'auteurs; les résultats furent souvent discordants et les discussions n'ont pas manqué d'être vives: l'expérience de LÆWI n'était, en effet, pas toujours facile à reproduire. La raison en était simple: l'acétylcholine libérée par excitation vagale est immédiatement hydrolysée par une estérase présente dans le sang et les tissus. Ce n'est qu'en 1926 que ENGELHARDT et LÆWI, ayant mis en évidence l'action inhibitrice de l'ésérine sur cette estérase, ont pu définitivement prouver la justesse de leur point de vue. La mise au point de la méthode de FÜHNER de dosage de l'acétylcholine sur le muscle de sangsue ésériné, procédé capable de déceler des quantités infimes d'acétylcholine (une concentration de $1/40.000.000$), a permis d'élargir le terrain des investigations. Les recherches récentes sur les substances chimiques libérées par les nerfs ont pris une telle envergure que les discussions très vives suscitées par l'expérience de LÆWI ont perdu beaucoup de leur intérêt et de leur acuité.

Nous ne mentionnerons que les expériences de FELDBERG et KRAYER (1933) qui, ésérinant le sang de la veine coronaire pendant l'excitation vagale, ont pu mettre en évidence une substance ayant toutes les propriétés de l'acétylcholine.

Dès 1926, LÆWI publie plusieurs contributions importantes et montre que son « vagustoff » est un ester instable de la choline et qu'il se compose essentiellement **comme l'acétylcholine**.

Aucun fait observé ne va à l'encontre de cette idée. En effet, l'action de l'acétylcholine à concentrations minimales chez l'animal « in toto » ou sur les organes isolés est toujours identique aux effets de l'excitation des nerfs parasympathiques. Citons : inhibition de l'automatisme cardiaque, excitation des mouvements des muscles du tractus gastro-intestinal, vaso-dilatation, excitation de la sécrétion de la glande sous-maxillaire, de la sécrétion externe du pancréas (VILLARET, Justin BESANÇON et EVENT, 1929), rétrécissement du diamètre pupillaire, contraction de la vessie, abolition de ces actions par l'atropine (HUNT et DE TAVEAU, 1906; DALE, 1914; DALE, 1929).

L'acétylcholine, comme le « vagustoff », est très instable en milieu alcalin à température de laboratoire ; mais l'activité du « vagustoff » peut être rétablie par acétylation (LÆWI et NAVRATIL, 1926). Ceci démontre que le « vagustoff » ne peut pas être la choline, substance inhibitrice du cœur, dont l'action est paralysée par l'atropine, car la choline est stable; on sait que l'acétylcholine est plusieurs milliers de fois plus active que la choline; et l'étude du coefficient d'acétylation d'un perfusât devenu inactif, l'étude quantitative de l'augmentation d'activité physiologique par acétylation donne des résultats concordant parfaitement avec l'hypothèse de l'identité acétylcholine-vagustoff.

L'hydrolyse rapide de l'acétylcholine par l'estérase des tissus et du sang, ainsi que la grande activité physiologique de l'acétylcholine à des concentrations infimes, a

posé un autre problème : l'existence probable de l'acétylcholine sous une forme inactive et à l'abri de la cholinestérase (cf. Beznak, 1934, Kahane, 1934, Gollwitzer-Meier, 1934). La mise en évidence dans le cerveau d'un complexe acétylcholinique physiologiquement inactif, décomposable par chauffage à 70° (CORTEGGIANI, GAUTRELET, KASWIN et MENTZER, 1936) fait confirmé par LÆWI (1938), a montré la justesse de cette hypothèse.

L'intervention de l'acétylcholine est-elle limitée au système parasympathique? Depuis 1933, de nombreux travaux ont paru, qui tendent à généraliser son intervention aux fibres préganglionnaires de tout le système nerveux autonome, ainsi qu'aux terminaisons des nerfs moteurs des muscles squelettiques et même aux synapses du système nerveux central. L'importance de cette généralisation, proposée par DALE et son école, n'échappe à personne. Les faits publiés à l'heure actuelle ne sont toutefois pas suffisamment nombreux ni suffisamment convaincants.

LA CHOLINESTERASE

Son action sur l'acétylcholine.

Dès 1914, DALE suggéra, pour expliquer l'action très passagère de l'acétylcholine, l'existence d'une hydrolyse rapide de cette substance avec intervention possible d'un mécanisme fermentaire. FÜHNER (1918), qui observa pour la première fois la sensibilisation du muscle de sangsue à l'acétylcholine par l'ésérine, était également de cet avis. C'est à LÆWI et NAVRATIL (1926) qu'on doit la démonstration de deux faits capitaux : 1° La présence dans les extraits de cœur d'une estérase, ferment hydrolysant le « vagustoff » et l'acétylcholine; 2° L'inhibition de l'activité de ce ferment par l'ésérine.

La nature fermentaire de l'estérase est bien établie : en effet, le chauffage à 56° l'inactive, ainsi que l'exposition aux rayons ultra-violets pendant 10 minutes et à la lumière fluorescente (une heure après addition d'ésérine à 1/10⁵). (LÆWI et NAVRATIL, 1926.)

Toutefois, GALEHR et PLATTNER (1927, 1928) ont supposé que dans la destruction de l'acétylcholine par le sang intervient un mécanisme d'absorption sur les surfaces catalysantes des globules rouges. L'activité cho-

linestéristique du sérum, même fortement dilué, est un fait qui enlève toute valeur à cet argument. D'ailleurs. PLATTNER et HINTNER (1929-1930) se sont rangés au point de vue de LÆWI et NAVRATIL.

Il est facile, en étudiant quantitativement l'hydrolyse de l'acétylcholine sous l'influence du sérum, par exemple en fonction du temps de retrouver une courbe diastatique caractéristique (GAUTRELET). Le fait avait d'ailleurs été observé par CLARK (1927) sur le cœur de grenouille avec l'extrait de myocarde de cet animal.

Par quel mécanisme l'estérase agit-elle sur l'acétylcholine? En libérant le noyau choline de l'ester acétique.

C'est l'opinion de DALE depuis 1914, de LÆWI (1926), de PLATTNER et HINTNER (1930). C'est l'opinion d'AMMON (1935) qui, récemment montrait par la méthode de WARBURG que l'inactivation de l'acétylcholine était liée à une hydrolyse fermentaire, hydrolyse que favorisent les alcalis, le maximum de stabilité de l'acétylcholine étant réalisé à pH 3.9 (HOFFMANN, 1930). Par contre, M. VILLARET, J. BESANÇON et CACHERA (1932) se demandent si l'on ne se trouve pas en présence d'une attaque du noyau cholinique lui-même, et ELLINGER (1914), HUNT (1915), PAGE et SMITH (1930) ont insisté sur la rapide disparition du sang de la choline elle-même. KAHANE suggérait récemment (1935) que la disparition de l'acétylcholine sous l'influence de l'estérase devait être attribuée, non à une hydrolyse, mais à l'exercice d'une fonction synthétisante qui la ferait passer sous une forme dissimulée.

L'activité synthétisante de la cholinestérase se pose d'ailleurs, en dehors de son activité hydrolysante qui, elle, paraît certaine.

*Le rôle éventuel de la cholinestérase
dans la synthèse de l'acétylcholine.*

LE HEUX constate que les sels d'acides organiques, et en particulier l'acétate de sodium, excitent l'intestin isolé de mammifère; l'effet disparaît lorsque la choline de l'intestin a été éliminée par plusieurs lavages; d'où l'hypothèse de l'existence dans la paroi de l'organe d'un ferment capable d'estérifier la choline avec les acides gras. Dans le même sens, ABDERHALDEN, PAFFRATH et SICKEL (1925) constatent l'apparition d'acétylcholine par addition de chlorure de choline et d'acétaldéhyde à une macération intestinale. AMMON et KWIATKOWSKI précisent la nature fermentaire de la synthèse de l'acétylcholine à partir de l'acétate de sodium, de l'acide acétique et du chlorhydrate de choline en présence de sérum frais, et, constatant que la réaction n'a pas lieu en présence d'ésérine, invoquent l'intervention probable de la cholinestérase.

Il convient de rapprocher de ces expériences celles de QUASTEL, TENNENBAUM et WHEATLEY (1936), ainsi que QUASTEL, MANN et TENNENBAUM (1938) qui ont observé la formation de l'acétylcholine à partir de tranches de tissu cérébral, maintenue à 38° en présence d'oxygène. STEDMAN (1937) a de même rapporté des faits indiquant la synthèse de l'acétylcholine à 38° dans le tissu cérébral en absence d'oxygène, mais en présence de chloroforme.

Si une synthèse fermentaire de l'acétylcholine est sans aucun doute à envisager, il est impossible à l'heure actuelle de préciser l'intervention de la cholinestérase. Certains faits, comme la synthèse en présence de l'ésé-

rine (expérience de QUASTEL). semblent exclure cette éventualité.

D'ailleurs, depuis les travaux de COLLWITZER-MEIER (1934), KAHANE (1934), BEZNAK (1934), la libération de l'acétylcholine, sous l'influence de l'excitation nerveuse, à partir d'un stock préformé où cette substance existerait sous forme inactive, semble plus probable.

CORTEGGIANI, GAUTRELET, KASWIN et MENTZER (1936) ont mis en évidence l'existence d'une telle forme inactive de l'acétylcholine dans le cerveau et différents autres organes — et ils envisagent la possibilité de l'intervention de la cholinestérase dans le mécanisme de la libération de l'acétylcholine du complexe protidique auquel elle semble liée. En effet, si le complexe acétylcholinique du tissu cérébral, par exemple, s'hydrolyse complètement si on le broie dans l'eau distillée, cette hydrolyse n'a plus lieu en présence d'ésérine. Toutefois, la libération de l'acétylcholine du complexe n'a de même plus lieu, en absence même d'ésérine, si, au lieu de broyer la substance cérébrale dans l'eau distillée, on la broie dans l'eau physiologique. On voit par conséquent difficilement comment la libération de l'acétylcholine du complexe s'opérerait sous l'influence de la cholinestérase « in vivo ».

LES INHIBITEURS DE LA CHOLINESTÉRASE

Quelques propriétés physico-chimiques.

Une des propriétés les plus remarquables de la cholinestérase est sa grande sensibilité à l'ésérine.

LÆWI et NAVRATIL (1926) ont, les premiers, mis en évidence l'inhibition de l'activité de la cholinestérase par l'ésérine. Cette découverte, ne l'oublions pas, a permis la démonstration définitive de l'intervention de l'acétylcholine comme intermédiaire chimique de l'excitation nerveuse.

L'ésérine agit à des concentrations extrêmement faible. D'après AMMON, l'inhibition est de 100% à des concentrations de $1/200.000$ à $1/2.000.000$, de 50% à une concentration de $1/20.000.000$. Toutefois, pour avoir inhibition complète de la cholinestérase tissulaire pendant un temps prolongé, il faut pratiquement une concentration d'ésérine de $1/40.000$. L'ésérine est en effet détruite progressivement par l'extrait.

Selon MATTHES (1930), l'action de l'ésérine sur l'estérase serait réversible; l'enzyme retrouverait son activité quand l'ésérine est enlevée par dialyse. Par contre, KAHANE et J. LÉVY (1938) affirment que l'inhibition de la diastase par l'ésérine est irréversible. Comment agit l'ésérine? Il est difficile de répondre à cette question à l'heure actuelle. D'après E. et E. STEDMAN (1930), l'ésérine agit par blocage chimique de l'enzyme. La preuve n'a pas été faite.

Comparant leurs essais chez l'animal aux expériences « in vitro », BROWN et ECCLES (1934) observent qu'à concentration égale, l'ésérine possède « in vitro » quantitativement le même pouvoir d'empêcher la destruction du médiateur acétylcholinique libéré aux terminaisons cardiaques du vague.

Pour connaître exactement la signification de l'action de l'ésérine, il est capital de savoir si l'estérase qui hydrolyse l'acétylcholine est spécifique, c'est-à-dire ne s'attaque qu'à l'acétylcholine, et si l'inhibition de l'ac-

tivité de ce ferment par l'ésérine est spécifique. En ce qui concerne ce dernier point, la réponse est facile : beaucoup de substances à concentration assez forte inhibent l'action de l'estérase. Enumérons : l'ergotamine (LÆWI et MAVRATIL (1926), MATTHES (1930), AMMON (1933) ; l'ergotoxine (MATTHES, 1930) ; la quinine et les fluorures (PLATTNER et HINTNER, 1930; MATTHES, 1930), divers narcotiques (PLATTNER et GALEHR, 1928). l'atoxyl (PLATTNER et HINTNER, 1930), la muscarine (AMMON, 1933), la choline (KAHANE et J. LÉVY, GAUTRELET, CORTEGGIANI, KASWIN et SERFATY).

Des études de E. et E. STEDMAN (1931, 1932) et de E. et E. STEDMAN et EASSON (1932), il résulte que la physostygmine n'est pas la seule substance capable d'inhiber, à faibles concentrations (de l'ordre de 10^{-7}) l'action de l'estérase cholinique. La nicotine, produit de clivage de l'ésérine (MATTHES, 1930), la prostigmine (AMMON, 1930) et beaucoup d'uréthanes synthétiques possèdent cette propriété.

La physostigmine et ses succédanés synthétiques inhibent l'action d'autres estérases (par exemple l'estérase du foie, qui s'attaque à la tributyrine et au méthylbutyrate). Donc, bien que l'ésérine et ses succédanés soient dépourvus d'une activité quelconque vis-à-vis des ferments triptyques et de la takadiastase (MATTHES, 1930), on ne peut les considérer comme des inhibiteurs spécifiques de l'estérase cholinique.

En étudiant les inhibiteurs de la cholinestérase, A. KASWIN a montré récemment (1939) la sensibilité de la cholinestérase vis-à-vis des ammoniums quaternaires, corps possédant un Az pentavalent dans leur noyau. En effet, la choline, la neurine, la muscarine, le bromure de triméthylammonium, l'iodure de tétraméthylammonium,

le bleu de méthylène, tous ammoniums quaternaires sont des inhibiteurs de la cholinestérase. Cet auteur montra également que des corps (alcaloïdes et amines) dépourvus d'Az pentavalent, et ne possédant qu'une activité anticholinestérasique réduite ou même nulle, pouvaient par iodométhylation acquérir ou augmenter de façon notable leur pouvoir inhibiteur de la cholinestérase. Par iodométhylation, en effet, l'azote trivalent de ces corps a été transformé en azote pentavalent. Les expériences ont porté sur l'adrénaline, l'atropine, la spartéine et l'urotropine. L'action anticholinestérasique des ammoniums quaternaires est intéressante du fait que le produit de clivage de l'acétylcholine qui intervient physiologiquement comme inhibiteur de la cholinestérase — comme l'ont souligné J. GAUTRELET, CORTEGGIANI, KASWIN et SERFATY — est lui-même un ammonium quaternaire. Une réaction chimique entre la cholinestérase et la fonction ammonium quaternaire pourrait donc être envisagée.

D. NACHMANSOHN et E. LEDERER ont étudié les propriétés chimiques de la cholinestérase (1939). Ils ont préparé des solutions très actives de cholinestérase à partir de l'organe électrique de la torpille (*torpedo vulgaris*), tissus très riches en cholinestérase. Ils ont ainsi obtenu une solution plus pure que celle de E. et E. STEDMAN (1935), qui partaient du sérum de cheval. Ils ont montré que *la cholinestérase est inactivée par dialyse*, mais peut être réactivée par certains corps tels que le glutathion. Ils concluent de leurs expériences que : « le système enzymatique contiendrait un groupement actif facilement inactivé par les métaux. L'inactivation par dialyse pourrait s'expliquer par le fait que la cholinestérase brute est protégée contre l'action des métaux par

un composé qui est enlevé par dialyse : le ferment dialysé deviendrait sensible aux traces de métaux ». Une autre conclusion de leurs travaux est qu'« il n'est pas exclu que des groupements — S H interviennent dans le système enzymatique de la cholinestérase ».

Comme autres propriétés de la cholinestérase, nous ajouterons sa précipitation par l'alcool et l'acétone. Si l'activation de l'enzyme est inhibée en milieu alcoolique ou acétonique, elle revient à la normale après élimination de ce réactif.

SPÉCIFICITÉ DE LA CHOLINESTÉRASE

La cholinestérase extraite du sang de cheval et purifiée par E. et E. STEDMANN et EASSON (1930) se confond-elle avec la lipase du sérum? Il est un fait certain, c'est que l'estérase du sérum sanguin de cheval diffère de l'estérase extraite du foie desséché de porc, de chat ou de l'homme, comme l'ont établi E. et E. STEDMANN et E. EASSON (1932) et AMMON (1933). En effet, cette estérase hépatique, active sur la tributyrine et le méthyl butyrate, est inactive sur l'acétylcholine et les esters de la choline. Au contraire, le sérum de cheval ou un ferment purifié préparé à partir de ce sérum hydrolyse, outre la tributyrine et le méthylbutyrate, l'acétylcholine. Il est probable qu'il s'agisse d'un mélange de ferments et qu'il existe par conséquent une estérase spécifique pour les esters de la choline.

La spécificité de la cholinestérase ne serait cependant pas absolue (E. et E. STEDMANN et WHITE, 1933).

*Méthodes de mise en évidence et de dosage
de l'activité cholinestérasique des tissus et humeurs.*

Il existe plusieurs méthodes de dosage de l'activité cholinestérasique des tissus et humeurs. Tout d'abord, la méthode chimique de STEDMANN. Elle consiste à mettre en évidence l'activité cholinestérasique par la mise en contact du produit, dont l'activité est à doser, avec une quantité connue d'acétylcholine en présence d'un indicateur (bleu de bromothymol). Sous l'influence de la cholinestérase, l'acétylcholine est décomposée et l'acidité du milieu est titrée par une solution de NaOH. Cette technique nécessite des quantités assez importantes d'acétylcholine et, par conséquent, un temps assez long pour le dosage. De plus, l'activité de la cholinestérase est faussée dans une certaine mesure par l'accumulation dans le milieu de la choline qui, comme nous l'avons mentionné, inhibe l'activité de la cholinestérase.

AMMON a introduit la méthode manométrique, en utilisant l'appareil de WARBURG. Le volume de CO_2 libéré à la suite de la décomposition de l'acétylcholine par la cholinestérase — le milieu étant tamponné par du bicarbonate — donne une mesure assez précise de l'activité cholinestérasique.

La méthode la plus simple et peut-être la plus exacte est le dosage biologique de l'acétylcholine hydrolysée sur le muscle de sangsue ésériné, préparation douée d'une sensibilité extraordinaire à l'acétylcholine.

Voici la technique du dosage : Une sangsue médicinale (*Hirudo medicinalis*) est fixée sur la face dorsale à une planchette de liège. Elle présente donc sa face

ventrale vert clair, ornementée de deux lignes longitudinales plus sombres; on pratique une incision le long de chacune de ces lignes et le muscle ventral est ainsi séparé. La chaîne ganglionnaire est prélevée très soigneusement à l'aide d'une pince fine; l'intestin et les autres organes sont également enlevés. On sectionne la tête de l'animal, éliminant ainsi les ganglions cérébroïdes qu'il serait particulièrement délicat d'enlever. Seule la partie antérieure du muscle dorsal sera utilisée. H. KAHLSON et UVNAS (1935) ont, en effet, signalé que la sensibilité de la partie antérieure était quatre fois plus grande que celle de la partie postérieure. Le lambeau de muscle ainsi préparé est fixé à la manière des organes isolés. La partie inférieure est fixée à un tube de verre permettant le passage de l'air ou de l'oxygène; l'autre extrémité est fixée au levier d'un myographe. Un cavalier de plomb, placé sur le stylet inscripteur permet de réaliser une tension convenable et de faciliter la détente du muscle. Le muscle est plongé dans une éprouvette renfermant 50 cc. d'une solution de Ringer et dont la partie inférieure comporte un robinet à trois voies.

Ce dispositif permet les lavages rapides du muscle au cours des essais. Les contractions transmises au levier enregistreur s'inscrivent sur un cylindre à vitesse très lente (100 cm. par heure).

Le muscle est préparé une heure avant de procéder aux dosages, afin que son relâchement soit complet. Après lavage, on ajoute au bain 1 cc. de sulfate d'ésérine à 1.10^{-5} . Suivant les saisons il est parfois nécessaire de modifier la concentration d'ésérine pour avoir le maximum de sensibilité : cette concentration peut varier de 4.10^{-6} à 1.10^{-6} . L'ésérine est laissée en contact pen-

dant une vingtaine de minutes et, après lavage, le muscle peut être utilisé.

Le dosage de l'acétylcholine dans l'extrait est obtenu par comparaison avec des solutions titrées. On procède tout d'abord à l'étalonnage de la sangsue : après addition aux 50 cc. de Ringer, de 1 cc. d'ésérine à 1.10—⁴, on ajoute une dose d'acétylcholine (le plus souvent 0,5 γ) susceptible de provoquer une contraction nette mais non maximale; on enregistre la contraction pendant trois minutes exactement, puis on procède au lavage; le muscle se détend assez rapidement (5 à 10 minutes). On répète deux à trois fois le même essai pour vérifier la constance de la réponse du muscle à une même dose d'acétylcholine.

On fait agir pendant trois minutes également l'extrait dans lequel on veut déceler l'acétylcholine (l'ésérine doit toujours être ajoutée immédiatement avant chaque essai et en quantité telle que la concentration de cette substance dans le bain soit constante; il faut naturellement tenir compte de l'ésérine contenue éventuellement dans les extraits): Après lavage, si la courbe obtenue n'est pas maximale, il sera facile de rechercher la dose de solution-étalon nécessaire pour obtenir une courbe identique.

Dans ces conditions, le dosage peut être réalisé avec une approximation de 10 à 20%.

Pour doser l'activité cholestérinasique d'un tissu ou d'un liquide organique, on opère de la façon suivante : On ajoute à une quantité X d'extrait frais d'organe ou de sérum, dont il s'agit de déterminer l'activité, une quantité d'acétylcholine 10 fois ou 100 fois supérieure à la dose-étalon. On laisse en contact pendant un temps donné, 30 secondes, 1 minute, 2 minutes, etc... On ar-

rête ensuite la réaction par addition d'ésérine (concentration finale 1/40.000). On dose alors la quantité d'acétylcholine non hydrolysée, selon la technique exposée plus haut. On obtient ainsi des chiffres permettant de tracer la courbe de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le tissu donné en fonction du temps.

Récemment, H. SCHEINER (1939) a mis au point une intéressante méthode de dosage biologique de l'activité cholinestérasique. Cet auteur se sert du muscle de l'abdomen de grenouille, contracturé par l'acétylcholine. Ce muscle se décontracte progressivement sous l'action de la cholinestérase ajoutée au bain. La vitesse de décontraction, par conséquent la vitesse de l'hydrolyse, dépend (dans certaines limites) uniquement de la concentration de l'estérase. La quantité d'acétylcholine n'a pas d'influence sur la vitesse de l'hydrolyse.

Répartition de la cholinestérase dans les tissus et humeurs des vertébrés et invertébrés.

La répartition de la cholinestérase est très différente dans les divers tissus.

En 1930, PLATTNER et HINTNER ont constaté que le cerveau ainsi que tous les organes contient de la cholinestérase E. et E. STEDMANN (1935) ont observé que les ganglions basaux possèdent à peu près deux fois plus d'enzyme que le cortex. D'après NACHMANSOHN (1939), il existe une très grande différence entre la concentration de la cholinestérase dans la substance blanche et la substance grise. La concentration est très élevée dans la

substance grise, mais là non plus l'enzyme n'est pas également répartie. Elle varie beaucoup selon les régions. La concentration en cholinestérase est, d'après NACHMANSOHN, 30 fois plus grande dans le noyau lenticulaire que dans le cortex. De plus, dans la substance grise, l'enzyme semble particulièrement concentrée au voisinage des cellules et synapses. La richesse en cholinestérase des ganglions sympathiques du chien serait 3 fois plus grande que celle des fibres.

Quant aux autres organes, le tableau suivant, de PLATTNER et HINTNER (1935), donne un aperçu de leur activité cholinestérasique :

TABLEAU I

*indiquant en minutes, d'après PLATTNER et HINTNER,
les temps de destruction de 50 p. 100 de l'acétylcholine
par les divers organes.*

<i>Foie</i> de lapin	0,5	<i>Cerveau</i> de lapin	2
— de chat	2	— de chat	1,5-5
— de chien	4	— de chien	7-3
<i>Pancréas</i> de chien	0,3	<i>Surrénales</i> de chien ...	2,5-3
— de chat	5-10	<i>Intestin grêle</i> de chien.	2,5-4
<i>S/-maxillaire</i> de chien.	5	<i>Rate</i> de chien	4
<i>Artère</i> de chien	5	<i>Utérus</i> de chat	5
<i>Poumon</i> de lapin	18	<i>Thyroïde</i> de chien	30
<i>L.C.R.</i> homme	20	<i>Nerf</i> de chat	30
<i>Cœur</i> de lapin	20-30	<i>Bile</i> de chien	30
<i>Muscle squelettique</i>	30	<i>Rein</i> de lapin	60
		<i>Liquide oculaire</i> de la-	
		pin	120

Chez le cobaye, HALPERN et CORTEGGIANI (1935) donnent les chiffres suivants :

TABLEAU II

*indiquant d'après M. HALPERN et E. CORTEGGIANI (1935)
les temps de destruction de l'acétylcholine par les divers organes.*

<i>Organes étudiés</i>	<i>Durée de contact du tissu avec l'acétylcholine</i>	<i>Destruction de l'acétylcholine</i>
<i>Foie</i>	2'	20 p. 100
—	10'	50 p. 100
—	23'	90 à 92 p. 100
<i>Intestin</i>	1'	60 p. 100
—	2'30"	90 p. 100
—	7'30"	90 p. 100
<i>Muscle strié</i>	10'	25 à 30 p. 100
—	20'	65 à 70 p. 100
<i>Sérum sanguin</i>	2"	40 à 50 p. 100
—	5"	75 p. 100
—	30"	95 p. 100
—	120"	99 p. 100

Si l'on confronte l'ensemble des données obtenues par les auteurs, exposées sur les tableaux I et II d'une part et l'ensemble des données relatives à la teneur en acétylcholine (tableau III), on constate qu'il existe une relation entre la teneur en estérase et la richesse en acétylcholine :

TABLEAU III

*indiquant la teneur en acétylcholine
des organes de divers animaux (en milligrammes par kilo).*

<i>Foie</i> de lapin	0,11	Ghang et Gaddum (1933).
— de chat	traces	Plattner (1934).
— de chien	0	Strack, Nenbaner et Geissendorfer (1933).
— de bœuf	84	Bischoff, Grab et Kapfhammer (1932).
<i>Pancréas</i> de bœuf ...	152	Bischoff (1932).
— de lapin. 0,13 à 0,22		Chang et Gaddum (1933).
<i>Glande sous-maxillaire</i> de chien	1,9-2,9	Chang et Gaddum.
<i>Poumons</i> de lapin ...	0,13	Chang et Gaddum.
<i>Cœur</i> de lapin	0,1-0,5	Chang (vent.)
<i>Muscles squelettiques</i> de lapin	0,01	Chang et Gaddum.
<i>Muscles squelettiques</i> de cheval	0,01	—
<i>Muscles squelettiques</i> de bœuf	194	Bischoff.
<i>Intestin</i> de chien ...	1,8-4,6	Chang et Gaddum.
— de lapin ...	2,8-4	—
— de cheval ..	2	—
— de bœuf	45	Bischoff (1932).
<i>Surrénales</i> de bœuf ..	2,15	Bischoff (1932).
<i>Cerveau</i> de chien ...	1,5-3,8	Kwiatkowski.
— de chat	1,5-4	Dikshit (1933).
— de lapin	2	Gollwitzer-Meier (1934).
<i>Sang</i> de bœuf	0	
<i>Rein</i> de bœuf	68-82	Chang et Gaddum (1933).
— de chien	0	

Le fait est notoire, particulièrement pour le cerveau, l'intestin, les surrénales.

Semble surtout faire exception le sang, qui est très riche en estérase et pauvre en acétylcholine. Par contre, il n'y a pas de tissu riche en acétylcholine et pauvre en estérase (GAUTRELET, 1935). D'après AMMON (1935), le sérum de l'homme, du bœuf et du lapin contient moins de cholinestérase que le sang total. Chez le chien et le cheval, le rapport est inversé. D'après le même auteur, la teneur en cholinestérase du sang humain ne varie pas au cours de la journée (à jeun et après les repas). Chez le lapin, par contre, ces variations seraient importantes. D'après TSUJI (1932), le pouvoir cholinestérasique du sang diminue notablement à la suite des saignées; l'auteur explique ce phénomène par l'afflux de la lymphe (dont la richesse en estérase est inférieure à celle du sang) dans la circulation générale.

Nous compléterons cette étude sur la cholinestérase par quelques données touchant les invertébrés.

Si la question de l'intervention de l'acétylcholine, en tant qu'intermédiaire chimique dans le fonctionnement du système nerveux des vertébrés, est bien établie, il n'en est pas de même chez les invertébrés. Il est intéressant à ce propos de signaler la grande fréquence de la cholinestérase dans les tissus de ces animaux, même chez des espèces où la présence d'acétylcholine n'a pu être mise en évidence.

TABEAU IV

La cholinestérase chez les invertébrés marins d'après BACQ.

Animal	Tissus	Cholinestérase
<i>Mollusques :</i>		
Patella vulgata	Pied	++++
Eusepsia officinalis	Cellules nerveuses	++++
<i>Sipunculien :</i>		
Phascolosoma vulgare	Liquide cœlomique	++++
— elongatum	—	++++
<i>Vers, Annelides :</i>		
Aphrodita aculeata	Pied	++++
Arenicola marina	Sang	0
—	Muscle de la paroi	++++
Mixicola	—	++++
Nereis diversicolor	Animal entier	++++
<i>Cœlentérés :</i>		
Metridium senile	Muscle spinter	0
Calliactus parasitica	—	0
<i>Echinodermes :</i>		
Antedon bifida	Animal entier	++++
Echinus esculentus	Muscle adducteur de la	
Asterina gibbosa	lanterne d'Aristote	++++
	Animal entier	++++
<i>Crustacés :</i>		
Homarus vulgaris	Muscle abdominal	++++
Palinurus —	—	++++
Carcinus mœnas	Muscle de la pince	++++

Si les muscles des Vers, des Siponculiens, des Mollusques et des Echinodermes se contractent sous l'influence de l'acétylcholine, les muscles des crustacés sont tout à fait insensibles à ce corps. La cholinestérase existe pourtant dans les tissus des crustacés. Il est curieux de constater que les Ascidies, considérés comme très proches des Vertébrés, se différencient notablement de ceux-ci par l'absence d'acétylcholine et l'inexistence de cholinestérase dans le sang. Ce fait est d'autant plus étonnant que les mollusques, les vers et les échinodermes sont à ce point de vue tout à fait comparables aux vertébrés.

Rôle fonctionnel de la cholinestérase.

La cholinestérase joue un rôle important dans le mécanisme de la transmission humorale de l'excitation nerveuse, dans la mesure où l'acétylcholine intervient comme médiateur chimique, c'est-à-dire dans l'ensemble du système parasympathique, dans les synapses des fibres préganglionnaires du système sympathique (KIB-JAKOFF, 1933) et comme l'avancent DALE et FELDBERG dans l'ensemble du système nerveux moteur.

Il ne peut pas y avoir d'acétylcholine en tant que médiateur chimique sans présence de cholinestérase. En effet, grâce à la cholinestérase est possible la localisation de l'excitation à l'endroit même où la décharge acétylcholinique a lieu. La diffusion dans la circulation générale de ce corps actif à des concentrations infimes est rendu impossible. La réaction est aussi limitée dans le temps par l'hydrolyse de l'excès de l'acétylcholine. L'organe ou le muscle peut, par conséquent, revenir rapidement à l'état de repos.

C'est ainsi que la concentration de l'enzyme dans le système nerveux central est assez élevée pour permettre l'hydrolyse d'une quantité d'acétylcholine relativement importante durant la période réfractaire. Le cervelet de poulet par exemple, qui pèse environ 4 à 500 mgr., peut hydrolyser 10^{14} molécules d'acétylcholine durant une milliseconde (NACHMANSOHN, 1938). Avec le thalamus on atteint le même chiffre. Pour se faire une idée de cette rapidité, il faut se rappeler que, d'après les expériences de FELDBERG et GADDUM sur le ganglion sympathique du chat, on peut calculer que 3×10^6 molécules d'acétylcholine sont libérées par un influx nerveux dans une seule synapse. D'après BILLINGSLEY et RANSON, ce ganglion contient environ 10^5 cellules. En admettant la même densité des cellules et synapses pour le cervelet ou le thalamus du poulet, qui pèsent 30-40 fois plus que le ganglion, la quantité d'enzyme serait suffisamment grande pour hydrolyser pendant la période réfractaire une quantité d'acétylcholine plusieurs fois plus élevée que ne le pourrait libérer simultanément tous les synapses.

L'intérêt biologique de ce parallélisme entre la concentration de la cholinestérase et celle de l'acétylcholine que nous avons souligné chez les vertébrés apparaît ainsi clairement.

CONCLUSIONS

1. — La cholinestérase est une diastase capable d'hydrolyser l'acétylcholine. Elle est détruite par chauffage à 56°. Elle est précipitée par l'alcool et l'acétone. Elle est inactivée par dialyse.

2. — La cholinestérase semble hydrolyser spécifiquement les esters de la choline.

Elle est inhibée par une série de corps de structures chimiques les plus diverses. Son inhibiteur principal étant toutefois l'ésérine. Tous les corps possédant une fonction ammonium quaternaire semblent doués de propriétés inhibitrices.

3. — La cholinestérase existe dans les tissus et humeurs des Invertébrés et des Vertébrés.

Chez les invertébrés, elle a pu être mise en évidence chez les *Vers*, *Siponculiens*, *Mollusques*, *Echinodermes* et *Crustacés*. Elle est absente du sang des *Ascidies*. La présence de la cholinestérase ne coïncide pas toujours chez les invertébrés avec l'existence d'une sensibilité des organes et des muscles à l'acétylcholine.

Il est donc impossible de conclure à l'heure actuelle à l'intervention de l'acétylcholine dans le fonctionnement du système nerveux chez les invertébrés.

Chez les vertébrés, la présence de cholinestérase est

constante dans le sang et la plupart des tissus. Il semble exister un parallélisme entre la richesse des tissus en cholinestérase et celle en acétylcholine.

4. — La cholinestérase joue un rôle primordial dans le fonctionnement du système nerveux végétatif. En hydrolysant l'acétylcholine, l'intermédiaire chimique de l'excitation nerveuse vagale, elle permet la localisation de l'effet de l'excitation au lieu de production de l'acétylcholine, et la limitation dans le temps de son action. Elle empêche la diffusion de l'intermédiaire chimique dans la circulation générale.

Vu :

Le Président,

M. LAIGNEL-LAVASTINE.

Vu :

Le Doyen,

M. TIFFENEAU.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

M. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- Abderhalden (E.), Paffrath (H.) und Sickel (H.).* — Beitrag zur Frage der Inkret (Hormon) Wirkung des Cholins auf die motorischen Funktionen des Verdauungskanales. (Arch. f. Physiol., 1925, 207, 241.)
- Ammon.* — Die Fermentative Spaltung des Acetylcholins. (Arch. f. Physiol., 1933, 233, 486.)
- Ammon et Kwiatkowski.* — Die Bildung von acetylcholine in serum und Embryonalextrakt. (Arch. f. Physiol., 1935, 234, 269.)
- Bacq.* — La cholinestérase chez les invertébrés. L'acétylcholine dans les tissus des invertébrés. (C. R. Soc. Biol., 1935, 3, 243-247.)
- Bacq.* — La cholinestérase chez les invertébrés. (Compte rendu Société de Biologie, 1935, 120, 247.)
- Bacq.* — La cholinestérase chez les invertébrés. L'insensibilité des crustacés à l'acétylcholine. (Arch. Intern. Physiol., 1935, 42, 47.)
- Bacq.* — Nouvelles observations sur l'acétylcholine et la cholinestérase chez les invertébrés. (Arch. Intern. Physiol., 1937, 44, 174.)

- Bacq.* — La transmission chimique des influx dans le système nerveux. (C. R. Soc. Biol., 1935, 37, 82.)
- Bernheim (F.) et Bernheim (M.).* — Oxydation of acetylcholine by tissues. (Amer. Journ. of Phys., 1933, 104, 408.)
- Beznak.* — On the mechanism of the autacoid function of parasympathetic nerves. (J. of Phys., 1934, 82, 129.)
- Billingsley and Ranson.* — The superior cervical ganglion and the cervical portion on the sympathetic trunk. (J. of Comp. Neurol., 1918, 29, 267.)
- Brown et Eccles.* — The action of a single vagal on the rhythm of the heart beat. (J. of Physiol., 1934, 82, 211.)
- Corteggiani (E.), Gautrelet (J.), Kaswin (A.) et Mentzer (C.).* — Sur l'existence d'un complexe libérant l'acétylcholine dans les centres nerveux sous l'influence de la chaleur. (C. R. Soc. Biol., 1936, 123, 667.)
- Clark.* — The reaction between acetylcholine and muscle cells. (Jour. of Phys., 1926, 61, 530, et 1927, 64, 123.)
- Dale.* — The action of certain esters and ethers of choline and their relation to muscarine. (Journ. of Pharmac., 1914, 6, 147.)
- Dale et Gaddum.* — Reactions of denervated voluntary muscle and their bearing on the mode of action of parasympathetic and related nerves. (Journ. of Physiol., 1934, 81, 40.)
- Dixon.* — The composition and action of orchitic extracts. (Jour. of Physiol., 1901, 26, 244.)
- Ellinger.* — (Munch Med. Woch., 1914, 61, 2336.)

- Elliott (T.-P.).* — The action of adrenalin. (Journ. of Phys., 1905, 32, 401.)
- Engelhardt et Læwi.* — Fermentative acetylcholin spaltung im Blut und ihre Hemmung durch Physostigmin. (Arch. f. exp. Path. und Pharm., 1930, 150, 1.)
- Feldberg et Gaddum.* — The chemical transmitter of synapses in a sympathetic ganglion. (Journ. of Phys., 1933, 80, 12.)
- Feldberg et Krayser.* — Das auftreten eines acetylcholinartigen stoffes in Herzvenen blut von Warmblutern bei reizung des N. vagi. (Arch. f. exp. Path., 1933, 62, 170.)
- Frédéricq (H.).* — La transmission humorale des excitations nerveuses. (Rapp. Soc. Biol., 1927.)
- Fuhner.* — Ein voclesungsversuch zur demonstration der erregbarkeitsteigernden Wirkung des Physostigmus. (Arch. f. exp. Path., 1918, 82, 81.)
- Fuhner.* — Die quantitative Bestimmung des cholins auf biologischen wege. (Bioch. Zeitsch., 1916, 77, 408.)
- Gautrelet (J.).* — Présence de la choline dans certaines glandes. Action de leurs extraits sur la glycosurie adrénalinique. (Comptes rendus Soc. Biol., 1908, 11, 174.)
- Gautrelet (J.).* — La choline dans l'organisme. Antagonisme des appareils chromaffines et cholinogènes. (C. R. Soc. Biol., 1908, 11, 448.)
- Gautrelet (J.).* — La choline. Son rôle hypotenseur dans l'organisme. Contribution à l'étude des coordinations fonctionnelles. (C. R. Acad. Sc., 1909, 1, 995, et Journal Physiol. et Path. Gén., 1909, 227.)
- Gautrelet (J.).* — Le diabète expérimentale. Contribution à l'étude des synergies fonctionnelles. (Journ. de Med. de Bordeaux 1909, 14 février.)

- Gautrelet (J.)*. — Contribution à l'étude de la choline dans l'organisme animal. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1936, 18, 449.)
- Gautrelet (J.) et Thomash.* — Action hypotensive du sérum de chien privé de surrénales. (C. R. Acad. Sc., 1909, 1, 17.)
- Gautrelet (J.), Corteggiani (E.), Kaswin (A.) et Mentzer (C.)*. — Libération diastasique d'acétylcholine par le foie. (C. R. Soc. Biol., 1936, 126, 664.)
- Gollwitzer-Meier.* — Zur frage des acetylcholins im Rinderblut. (Arch. exp. Path., 1934, 174, 456.)
- Halpern (N.) et Corteggiani (E.)*. — Etude comparative de la destruction de l'acétylcholine par divers organes de cobaye, de grenouille et d'escargots. (C. R. Soc. Biol., 1935, 119, 1049.)
- Hoffmann.* — (Helv. Chim. Act., 1930, 13, 138.)
- Howell.* — Vagus inhibition of the heart in its relation to the inorganic salts of the blood. (Amer. J. of Physiol., 1906, 15, 280.)
- Hunt (R.)*. — A Physiological test for cholin and some of its applications. (Journ. of Pharm., 1915, 7, 301.)
- Hunt et de Taveau.* — (Brit. med. Journ., 1906, 2, 1788.)
- Kahane (E.)*. — L'acétylcholine dans le sang. (Journ. Méd. Pharm. Lille, mars 1934.)
- Kahane (E.) et Lévy (J.)*. — L'inhibition de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum. (C. R. Soc. Biol., 1936, 121, 1596.)
- Kahlson et Uvnas.* — Zur theorie des sensibilisierung für Acetylcholin, zugleich Bericht über eine erregbarkeitssteigern de Wirkung des Fluorids (Scand. arch. f. Physiol., 1935, 72, 215.)
- Kibjakoff.* — Ueber humorale übertragung der erre-

- gung von einem Neuron auf das andere. (Arch. f. Physiol., 1933, 232, 432.)
- Kaswin (A.).* — Action inhibitrice des ammoniums quaternaires sur l'activité de la cholinestérase du sérum sanguin. (C. R. Soc. Biol., 1939, 130, 859.)
- Lapicque (L.).* — Excitants et paralysants dans le domaine du système nerveux autonome. (Ann. de Physiol., 1934, 10, 555.)
- Le Heux.* — Cholin als hormon der darmbewegung. (Arch. f. Phys., 1918, 173, 8 et 1919, 179, 177.)
- Læwi (O.).* — Ueber humorale uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. (Ph. Arch., 1921, 189, 239 et 1922, 1924, 1926.)
- Læwi (O.) und Navratil.* — Ueber den mechanismus des Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. (Arch. f. Physiol. 1926, 214, 689.)
- Læwi (O.) et Navratil.* — Ueber das schicksal des vagusstoffes und des acetylcholins im Herzen. (Klin. Woch., 1926, 5, 894.)
- Marnay (A.) et Nachmansohn (D.).* — Cholinestérase dans le nerf de Homard. (C. R. Soc. Biol. 1937, 125, 1005.)
- Matthes.* — The action of Blood on acetylcholine. (J. of Phys. 1930, 70, 338.)
- Minz.* — Pharmakologische untersuchungen am Blutegel preparat zugleich eine Methode zum Biologischen nachweis von acetylcholin bei anwesenheit anderer pharmacologisch wirksamer korpereigener stoffe. (Arch. f. exp. Path. 1932, 168, 282.)
- Nachmansohn (D.).* — Cholinestérase dans les tissus embryonnaires. (C. R. Soc. Biol. 1938, 127, 670.)

- Nachmansohn (D.)*. — Cholinestérase dans le tissu nerveux. (C. R. Soc. Biol. 1938, 127, 670.)
- Nachmansohn (D.) et Lererer (E.)*. — Sur quelques propriétés chimiques de la cholinestérase. (C. R. Soc. Biol. 1939, 30, 321.)
- Plattner*. — Acetylcholinartige substanz in den nebenieren und in einigen anderen organen. (Arch. f. Phys., 1934, 234, 258.)
- Plattner et Hintner*. — Die Spaltung von acetylcholin durch organextrakte und Körperflüssigkeiten. (Arch. f. Phys. 1930, 235, 19.)
- Plattner et Galehr*. — Der einfluss verschiedener narkotica auf die spaltung des acetylcholins. (Arch. f. Phys. 1928, 220, 606.)
- Quastel (J.-H.), Tennenbaum (M.) and Wheatley (A.-H.-M.)*. — Choline ester formation and cholinesterase activities of tissues in vitro. (Bioch. Journ. Soc., 1932, 112, 60.)
- Scheiner (H.)*. — (C. R. séances Soc. Biol. 1939, 130, 748.)
- Stedman (E.) and Stedman (E.)*. — The mechanism of the biological synthesis of acetylcholin. The isolation of acetylcholin produced by brain tissues in vitro. (Bioch. Journ., 1937, 31, 817.)
- Stedman (E. and E.) and Easson*. — Cholinesterase, an enzyme present in the blood serum of the horse. (Biochem. Journ. 1930, 26, 2056.)
- Stedman et White*. — A comparison of the cholinesterase activities in the blood serum of the horse. (Biochem. Journ. 1932, 26, 2056.)
- Villaret, Justin Besançon et Cachera*. — Recherches expérimentales sur quelques esters de la choline. (Masson éd., 1934.)

Vincent (D.) et Jullien (A.). — Contribution à l'étude de la cholinestérase chez les invertébrés : la cholinestérase de l'hémolymph des mollusques. (C. R. Biol. 1938, 127, 628.)

Witanowski. — Ueber das vorkommen von acetylcholin im Rinderblut. (Arch. f. Phys., 1925, 208, 694.)

